

Naudojimas

Cisticerkozė Western Blot IgG yra in vitro kokybinis imunoblotinis tyrimas, skirtas serologiniam cisticerkozės IgG tyrimui žmogaus serume.

Tyrimo principas:

1/Juostelės

Cysticercus antigenai iš natūralaus lervų ekstrakto buvo suskaidyti elektroforezės būdu į juostelinius žymenis ir perkelti elektroblotingu ant nitroceliuliozės membranų (Western Blot procedūra). Antigeno perkelta membrana susmulkinama į paruoštas naudoti numeruotas juosteles.

2/Tyrimas

Mėginiai gali būti serumas arba stuburo smegenų skystis (CSF).

Kiekvienas tiriamas serumas yra nedelsiant inkubuojamas su membranos juostele. Specifiniai *Cysticercus* IgG, jei yra serume, surišami su antigenais juostelėse. Pirmasis plovimas nuvalo bet kokius nesurištus serumo komponentus.

Juostelės yra inkubuojamos su šarmine žmogaus anti-fosfatazės IgG junginiu.

Antras plovimo žingsnis nustato visą kompleksą, surastą substrate (NBT/BCIP), kuris pasireiškia tamsiai mėlynom-purpurinėm nuosėdom. Nuskalavus juosteles distiliuotu vandeniu, spalvos ryškinimasis sustoja. Specifinis *Cysticercus* IgG, jei yra serumo pavyzdyje, pasirodys juostelėse violetine spalva. Juostelės yra išdžiovinamos ir jų spalva išlieka nepakitusi keleta metų, jei laikomos apsaugotos nuo tiesioginės šviesos.

3/Atsakymas (žr. 8 psl. Elementų interpretacija)

Specifinių ruoželių ant juostelių buvimas, joms esant serume, parodo cisticerkozę.

Specifinių ruoželių ant juostelių buvimas, joms esant CSF, parodo neurocisterkozę.

Rinkinio komponentai

Pastaba: skaičiai (*Italic šriftu*) yra dydžiai ir kiekiai, užsakomi 12 testų rinkiniui #CYS -WB12G.

Skaičiai (**paryškinti**) yra dydžiai ir kiekiai, užsakomi **96 testų rinkiniui #CYS -WB96G**.

R1 Vienas (1) talpina 24 (12 ar **4x24**) numeruotas TESTŲ JUOSTELES. Jos yra nitroceliuliozės membranos juostelės, skirtos elektroforezės būdu išskirti *Cysticercus* lervų antigenams. **Paruoštos naudoti.**

R2 Vienas (1) buteliukas talpina 30 (30 ar **120**) ml MĖGINIO BUFERIO: buferis + surfaktantas + NaN_3 (<0,1%) + raudonos spalvos indikatorius. **Rožinės spalvos tirpalas - paruoštas naudoti.**

R3 Vienas (1) buteliukas talpina 60 (60 ar **240**) ml PLAUNANČIO KONCENTRATO: 10 x koncentruotas buferis + surfaktantas + NaN_3 (<0,1%). **Bespalvis tirpalas – skiedžiamas 1/10 distiliuotu vandeniu.**

R4 Vienas (1) buteliukas talpina 30 (30 ar **120**) ml ANTI Ig KONJUGATO: buferis + polikloniniai ožio antikūnai prieš žmogaus Ig – šarminis fosfotazės konjugatas + stabilizatoriai + NaN_3 (0,1%) + melsvos spalvos indikatorius. **Melsvas tirpalas – paruoštas naudoti.**

R5 Vienas (1) buteliukas talpina 200 (200 ar **400**) μl TEIGIAMOS KONTROLĖS: buferis + žmogaus serumas serologiškai teigiamas *cysticercosis* + stabilizatoriai + NaN_3 (<0,1%). **Buteliukas raudonu dangteliu – paruoštas naudoti.**



R6 Vienas (1) buteliukas talpina 30 (30 ar **120**) ml SUBSTRATO: buferis + NTB + BCIP + stabilizatoriai. **Rudas buteliukas – paruoštas naudoti.**

- Viena (1) Molekulinių svorių (MW) Standartų Juostelė (rekombinantiniai baltymai), matoma dešinėje nitroceliuliozės membranos pusėje (R1 komplekte) MW įvertinimui (apytiksliai verčių, (kDa): Mėlyna = 250, Mėlyna = 150, Mėlyna = 100, rožinė = 75, Mėlyna = 50, Žalia = 37, Rožinė = 25, Mėlyna = 20, Mėlyna = 15, Yellow (labai šviesiai) = 10.
- Rinkinyje taip pat yra 15 psl., vienas (1) puslapis į nuorodas: skenuota Cisticercosė imunoblota (teigiami ir neigiami rezultatai, įskaitant kelias juosteles neturinčias specifinių ruoželių helminthiasis mėginiuose) kopija.

Reikalingos medžiagos

- Latekso pirštinės be talko ir pincetas juostelių laikymui
- Daugiakanalis polipropileno inkubacinis padėklas mini-blot (LDBIO # WBPP-8 ar ekvivalentas)
- Svyruojanti platforma
- Filtruoto vandens rezervuaras sujungtas su vakuumine sistema (pakanka vandens aspiratoriaus)
- Skalpelis ar peiliukas
- Peršviečiama liniuotė
- Sugeriamasis popierius (Vatmano ar atitinkamas)
- Aliuminio folija
- Aukštos kokybės distiliuotas ar dejonizuotas vanduo
- Automatinės pipetės, mikropipetės ir vienkartiniai galiukai dydžių: 25 µl, 50 µl, 1,2 ml ir 2 ml
- Graduoti cilindrai ir rezervuarai
- Laikrodis
- Geros kokybės peršviečiama lipni juostelė
- Priemonės serumo rinkimui

Laikymo sąlygos ir tinkamumas

Visi reagentai yra tinkami iki nurodytos datos (pažymėtos ant išorinės dėžės ir buteliuko etiketėje), jei laikomi temperatūroje nuo 2 iki 8 °C.

Plaunamasis buferio tirpalas tinkamas 2 mėnesius po atskiedimo, jei laikomas 2-8°C.

Ispėjimas

1/ Saugumas

- Visi reagentai gauti iš žmogaus darinių buvo testuoti ir gauti jų neigiami atsakymai dėl ŽIV antigenų, hepatito B, hepatito C antigenų. Bet koku atveju reikia vengti tiesioginio kontakto ir su medžiagomis elgtis kaip su potencialiu užkratu.
- Naudoti tik *in vitro* diagnostikoje.
- Saugotis vidinio ir odos kontakto.
- Dėvėti apsauginius drabužius, vienkartinės latekso pirštines ir akių apsaugą dirbant su įranga ir atliekant testus. Kruopščiai plautis rankas po darbo.
- Niekada nerūkyti, nevalgyti ir negerti laboratorijos darbo vietoje.
- Į dauguma reagentų įeina natrio azidas kaip konservantas. NaN_3 reaguodamas su švinu ir variu gali suformuoti metalų azidus, kurie yra sprogūs. Tam išvengti, reagentai turi būti toli nuo vandens, kad nesusiformuotų azidai.
- Tiek mėginiai, tiek rinkinio reagentai turi būti laikomi pagal Bendras Laboratorinės Praktikos taisykles.



- Substratai su NTB ir BCIP gali būti toksiški įkvepiant, arba esant kontaktui su oda. Po bet kokio substrato sąlyčio su oda būtina kuo skubiau ją gausiai nuplauti vandeniu

2/Procedūra

- Naudoti pirštines be talko ir pincetą *western blot* laikymui.
- Nenaudoti reagentų pasibaigus jų galiojimo terminui.
- Nemaišyti reagentų su skirtingu loto (LOT) numeriu.
- Nenaudoti rinkinio, jei reagentai susidrumstę.
- Reagentų neužšaldyti.
- Nukrypimai nuo standartinio protokolo gali įtakoti klaidingus rezultatus.
- Nenaudokite rinkinių, kurių buteliukai nėra sandarūs
- Nepalikti reagentų tiesioginiuose saulės spinduliuose ir/ar aukštesnėje nei 4-8°C neribotam laikui.
- Nenaudotus komponentus laikyti 2-8°C temperatūroje.
- Nepanaudotas juosteles padėti į jų originalias plastikines pakuotes.
- Jei pavyzdžiai negali būti testuojami tą pačią dieną, jie gali būti laikomi 2-8°C ne ilgiau kaip 3 dienas. Jei laikyti tenka ilgiau – pavyzdžiai turi būti užšaldyti - 20°C. Vengti pakartotino užšaldymo. Atitirpinus – kruopščiai sumaišyti.
- Neužteršti pavyzdžių bei komponentų ir visada naudoti naujus pipetės galiukus kiekvienam pavyzdžiui ir komponentui.
- Naudoti aukščiausios kokybės distiliuotą ar dejonizuotą vandenį plaunamajam tirpalui. Dėl nekokybiško vandens gali pakisti spalva – iškreipiamas atsakymas.
- Prieš skiedžiant, gerai sumaišyti plovimo koncentratą.
- Visada naudoti švarias, geriausia vienkartinės talpas visiems reagentams.
- Saugotis užteršimo iš aplinkos.
- Įtvirtinti veiksmų planą prieš darbo pradžią.
- Rūpintis, kad mėginiai būtų teisingai paskirstyti jiems skirtuose testų grioveluose. Jei mėginiai nebus tinkamai paskirstyti, atitinkamo griovelio rezultatas bus neigiamas, nepaisant tikrosios mėginio būsenos.

Mėginių paėmimas

Serumo ir CSF mėginiai gali būti imami, remiantis gerąja medicinos praktika. Mažiausiai 25μl serumo (50μl CSF) reikalingi CYSTICERCOSIS WB IgG nustatymui.

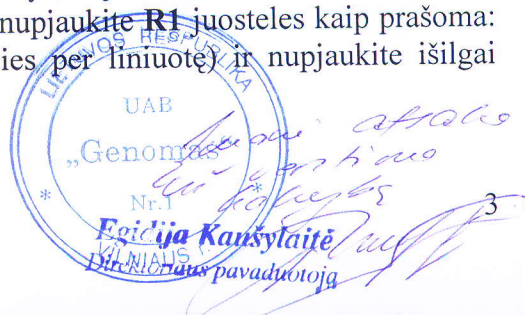
Jei mėginys negali būti testuojamas tą pačią dieną, kada buvo paimtas, jis gali būti laikomas 2-8°C iki 3 dienų. Jei tyrimas atliekamas vėliau nei per 3 dienas, mėginys turi būti užšaldytas -20°C.

Reagentų paruošimas

Plovimo buferis (R3) - 4 CYSTICERCOSIS WB IgG tyrimams, atskieskite 10 ml plovimo koncentrato 10 x (R3) į 90 ml distiliuoto ar dejonizuoto vandens. Sumaišyti. Spaudžiamasis butelis gali būti naudojamas atskiesto plovimo buferio paskirstymui plovimo metu. Plovimo buferio tirpalas yra tinkamas 2 mėnesius po atskiedimo, laikant 2-8°C.

Tyrimo procedūra

1. Nustatykite kontrolės ir mėginių išdėstymo veiksmų planą prieš pradėdami tyrimą. Juostelės yra sunumeruotos, pridedamos R1 rinkinyje.
2. Paskirstykite 1,2 ml mėginio buferio (**R2**) į reikiamus griovelius.
3. Mūvėkite pirštines be talko. Neliesti juostelių pirštais, laikykite juosteles pincetu. Naudodami peršviečiamą liniuotę (gerai nuvalytą ir sausą) ir skalpelį, nupjaukite **R1** juosteles kaip prašoma: laikykite juosteles prispaustas liniuote (numeriai persižvies per liniuotę) ir nupjaukite išilgai juostelės. Įsitikinkite, kad nenupjovėte juostelės numerio.



4. Naudodami pincetą padėkite vieną membranos juostelę gerąja puse į kiekvieną griovelį pagal instrukcijas. Likusias juosteles gražinkite į jų pakuotes. Švelniai suplakite padėklą, kad juostelės būtų gerai apsemtos buferiu. Inkubuokite 5-10 min, kad juostelės gerai sudrėktų.
5. Paskirstykite kiekvieno mėginio po 25 μ l (50 μ l CSF) ir teigiamos kontrolės po 25 μ l grioveliuose, sekdami nurodymų planą. Švelniai suplakite padėklą (venkite mėginių susimaišymo) po kiekvieno mišinio paskirstymo. Serumas: inkubuokite ant svyruojančios platformos (apie 10 ciklų/min) **90 minučių** (± 5 min) 18-25°C. CSF: inkubuokite per naktį (12 valandų, ± 2 val.) ant svyruojančios platformos 18-25°C. Turite uždengti padėklą plėvele tam, kad išvengtumėte išsausėjimo.
6. Plovimo žingsniai:
 - 6.1 Išsiurbkite skystį iš kiekvieno griovelio su vienkartinio antgaliu, sujungtu su vakuumo sistema. Paskirstykite 2 ml **atskiesto** plovimo buferio į kiekvieną griovelį. Švelniai suplakite ir išsiurbkite skystį iš griovelių.
 - 6.2 Paskirstykite likusius 2 ml **atskiesto** plovimo buferio į kiekvieną griovį. Inkubuokite ant svyruojančios platformos 3-5 min. Išsiurbkite skystį iš griovelių.
 - 6.3 Pakartokite 6.2 žingsnį dar kartą.
7. Įlašinkite 1,2 ml anti IgG junginio (R4) į kiekvieną padėklo griovelį. Švelniai suplakite. Inkubuokite ant svyruojančios platformos **60 min** (± 5 min) 18-25°C.
8. Plovimo žingsnis: pakartokite 6 žingsnį.
9. Paskirstykite 1,2 ml NBT/BCIP substrato (R6) grioveliuose. Švelniai suplakite padėklą. Inkubuokite ant svyruojančios platformos 18-25°C. Uždenkite padėklą aliuminio folija. Reguliariai tikrinti spalvos intensyvumą. Dažniausiai spalva išryškėja per 10-60 min., bet nėra tikslios laiko ribos. Leiskite spalvai ryškėti, kol juosteliniai žymenys taps ryškiai kontrastingi, lyginant su pradine rožine-pilka juostelės spalva. Sustabdykite spalvos kitimą išsiurbdami skystį iš griovelių ir paskirstydami 2 ml distiliuoto vandens. Pakartokite šį žingsnį dar kartą.

Pastaba:

- Kai kurių pacientų serumas gali turėti žemą *Cysticercosis* antikūnų lygį. Būkite atidūs išlaukdami pakankamą juostelinių žymenų spalvos atsiskleidimo laiką (tikrinkite juostelių fono spalvą, užtikrindami rožinės-pilkos kolorito išlaikymą).
 - Plovimo žingsnių kokybė yra svarbi išgaunant aiškų kontrastą su pradine juostelių spalva
10. Paimkite juosteles už viršaus, naudodami pincetą, perkelti juosteles gerąja puse ant filtruoto popieriaus **ir leiskite išdžiūti**. Palikite juosteles džiūti apie 15 min: juostelių spalva taps daug šviesesnė po išdžiūvimo.
 11. Prispauskite juostelių viršunes mėlyna linioje prie popieriaus. Laikydami jas su plokščia linioje, priklijuokite juostelių viršunes prie popieriaus peršviečiama lipnia juosta.

Dėmesio: Sausos juostelės trapesnės nei drėgnos.

Rezultatų aiškinimas

Molekulinio svorio (MW) identifikavimo įrankiai

- Nežinomų ruoželių molekulinis svoris gali būti palyginamas su pozicijomis ruoželių, nudažytų MW standartų juostelėse (R1). Prieš naudodami, linioje ir peiliuku atskirkite standartinę juostelę nuo R1.
- **Besiribojanti juostelė su R5 teigiama kontrole** yra pats tiksliausias teigiamas rinkinio standartas (suderinkite juosteles tarpusavyje jų viršūnėmis kiek įmanoma tiksliai, naudodami mėlyną lyniuotę). Tokiu būdu gausite tikslų specifinio ruoželio nustatymo modelį.
- Rinkinyje taip pat yra 15 psl., vienas (1) rekomendacijų lapas: skenuota *Cysticercosis* imunoblotų (teigiamų ir neigiamų rezultatų bei kelių nestandartinių rezultatų) pavyzdžiai.

UAB „Genomas“
Egidija Kaušlyaitė
Direktorius pavaduotoja
VILNIAUS

Ruoželių apibūdinimas (C. f.: p. 15)

Sunumeruoti ruoželiai (tarp 6 ir 200 kDa) gali būti laikomi teigiamu cysticercosis mėginiu. Praktikoje tik sritis žemiau 55 kDa gali būti naudojama Cysticercosis imunoblotų skaitymui (vertinimui).

5 ruoželiai buvo pasirinkti būtent dėl savo specifiškumo cysticercosis antikūnams.

(kDa): 6-8 12 23-26 39 50-55

Ruoželiai 6-8 ir 23-26 kDa gali atrodyti kaip viena didelė grupė ar 2 labai arti viena kitos esančios grupės. Ruoželiai 50-55 kDa paprastai atrodo kaip didelė neapibrėžta (neaiški) grupė.

Svarbios pastabos:

- 1/ 2 sritys yra labiau specifinės ir lengviau skaitomos: **6-26 ir 39-55 kDa** (15 p.)
- 2/ Tarpinė sritis, žymima 23-26 ir 39 kDa, yra mažiau specifinė cysticercosis atžvilgiu (kryžminės reakcijos su kitomis helmintozėmis ir plasmozėmis), žr. P. 11 "Specifiškumo testavimas".

Interpretavimas

-Serume:

Minimum dviejų aiškiai apibrėžtų grupių buvimas tarp 5 aukščiau apibūdintų grupių rodo cisticercozę.

-CSF

Minimum dviejų aiškiai apibrėžtų grupių buvimas tarp 5 aukščiau apibūdintų grupių rodo neurocisticercozę.

Pastaba:

Serume žemesnės MW grupės (**6-8 kDa** mūsų sistemoje) buvimas, yra apibūdinamas kaip identifikuojantis **aktyvią** cisticercozę [7,9,10].

CSF žemesnės MW grupės (6-8 kDa mūsų sistemoje) buvimas, yra apibūdinamas kaip identifikuojantis **aktyvią** neurocisticercozę [7,9,10].

NAUDOJIMO APRIBOJIMAI:

1. CYSTICERCOSIS WB IgG rezultatai turi būti lyginami su visai galimais klinikiniais rezultatais epidemiologinių ir laboratorinių duomenų kontekste.
2. Grupių ruoželiai gali turėti įvairius pavidalus: ploni, stori, intensyvūs ar nelabai intensyvūs. Rekomenduojama prieš pradedant naudoti CYSTICERCOSIS WB IgG vertinimą, atlikti mokomuosius serologinius tyrimus.
3. Neigiamas CYSTICERCOSIS WB IgG rezultatas neatmeta infekcijos galimybės.

PROBLEMAS

"Grupiniai ruoželiai blankūs, be kontrastų"

Gali būti labai žema specifinių antikūnų koncentracija serume.

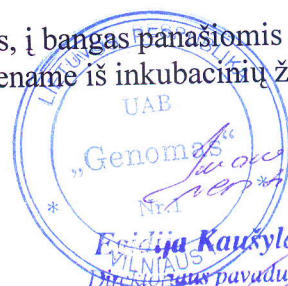
"Grupiniai ruoželiai staiga išdideja, tampa tamsūs, tad yra netinkami interpretuoti".

Gali būti labai didelė specifinių antikūnų koncentracija serume. Stebėti spalvos ryškėjimą (paskutinėje inkubacijoje), kad spalva netaptų ypač intensyvi.

"Ruoželiai atrodo iš dalies nusidažę su neryškiomis, į bangas panašiomis dėmėmis".

Juostelė nebuvo pakankamai suvilgyta reagentu viename iš inkubacinių žingsnių.

"Juostelė rodo ryškų pradinį nusidažymą"



Plaunamieji žingsniai buvo nepakankamai kruopštūs arba paskutinė inkubacija buvo per ilga. Pasitikrinkite procedūros techniką, ypač plovimo etapus bei dejonizuoto vandens kokybę. Stebėkite spalvos ryškėjimą, kad spalva netaptų ypač intensyvi. Mėginio rezultatai gali būti nespecifiniai. Gali atrodyti lyg dryželiai. WB nėra lengvai interpretuojamas. Nespecifinis dryžuotumas gali būti tik vienoje juostelės dalyje.

“Tamsiai purpurinės nuosėdos susidaro buferyje paskutinės inkubacijos metu (dažų ryškėjimo etape)”.

Substratas gali dalinai susidrumzti buferyje paskutinio inkubacijos periodo metu. Tai neturėtų įtakoti normalaus grupinių ruoželių nusidažymo juostelėje. Kietos nuosėdų dalelės bus nuplautos paskutinio plovimo metu. Nekreipkite dėmesio ir tęskite inkubaciją pagal tyrimo reikalavimus.

KOKYBĖS KONTROLĖ

Teigiama kontrolė įeina į rinkinį. Tai naudinga dėl :

- techninės procedūros pagrįstumo (grupiniai ruoželiai turi pasirodyti visiškai aiškiai ant juostelių)
- tikslios 5 aiškių grupių identifikacijos.

Rezultatų pagrįstumui, visuomet lyginkite proteinų grupes, esančias ant mėginių juostelių su proteinų grupėmis ant (R5) pozityvios kontrolės juostelės.

MĖGINIO CHARAKTERISTIKOS

Tyrimai atlikti 2 nepriklausomų viešųjų laborijų.

Jautrumas:

Lab 1:

Buvo tirti 52 cysticercosis teigiami mėginiai, naudojant CYSTICERCOSIS WB IgG *versus* pagrįstą namų imunoblotų techniką.

- 50 iš jų buvo nustatyti teigiami CYSTICERCOSIS WB IgG, testai koreliavo 96,1 % atvejų.
- Buvo testuoti 6 CSF teigiami mėginiai. Visi iš jų buvo teigiami abiejuose tyrimuose.

Lab 2:

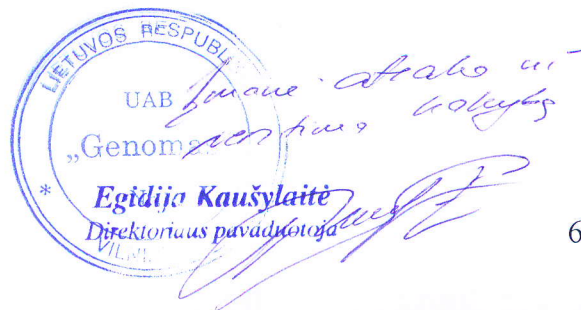
18 cisticerkozės teigiami mėginiai ir 3 teigiami CSF mėginiai (klinikiniais, epidemiologiniais, vaizdiniais ir serologiniais rezultatais) buvo testuojami naudojant CYSTICERCOSIS WB IgG.

- Visi 18 serumų ir 3 CSF mėginiai buvo teigiami CYSTICERCOSIS WB IgG;

Specifinės grupės (kDa)	P6-8	P12	P23-26	P39	P50-55
Dažnis (%)	83	78	83	83	89

Tyrimo specifiškumas:

Lab 2:



95 serumo mėginiai iš kurių 81 parazitų infekcijų ir 14 autoimuninių ligų buvo testuojami naudojant CYSTICERCOSIS WB IgG: T. Canis (7), T. Spiralis (14), T. Gondii (7), F. Hepatica (4), E. granulosus (14), E. multilocularis (14), Shistosoma (14), RF+ (7), ANA +(7).

Rezultatai:

Visi 95 serumai buvo nustatyti neigiami CYSTICERCOSIS WB IgG

Rinkinys: nė vienas mėginys neparodė 2 ar daugiau aiškiai atpažįstamų pozityvių specifinių grupių.

Prie viso to:

41/95 mėginių parodė blyškias ir praretėjusias grupes srityje 26-39 kDa, kas nėra būdinga cysticercosis: T. Spiralis (4/14), T. Gondii (3/7), Filariae (1/7), F. Hepatica (1/4), E. granulosus (9/14), E. multilocularis (9/14), Shistosoma (5/14) ir 3 serumai ANA+ ir 6 serumai RF+.

Kai kurie teigiami mėginiai, daugiausiai užsikrėtę echinococcosis, gali duoti silpnas kryžmines reakcijas 6-8 kDa ir/arba 39-55 kDa srityse:

- 6 serumų mėginiai su E. multilocularis (5/14) ir E. granulosus (1/14) infekcijos parodė artimas grupes 6-8 kDa srityje.
- 7 serumų mėginiai su E. granulosus (1/14), E. multilocularis (4/14), Shistosoma (1/14) ir ANA+ (1/7) infekcijomis parodė artimas grupes 39-55 kDa srityje.

Pastaba: Dalinis P50-55 grupės pasirodymas leidžia diferencijuoti P50-55 iš smulkių grupių, kurios gali pasirodyti su E. granulosus, E. multilocularis ir Shistosoma teigiamais serumais.

Kontekste galimų cerebrinių cistinių echinococcosis, silpnas teigiamas WB rezultatas(t.y. atskirtos grupės 6 ir/arba 39-55 kDa) turi būti interpretuojamas atsargiai.

APIBENDRINIMAS:

Rezultatų pagrįstumui visada lyginkite proteinų grupes, esančias ant mėginių juostelių su proteinų grupėmis ant pozityvių kontrolės juostelių (R5). Tai ypač svarbu teisingai interpretuojant rezultatus.

Atkuriamumas

- Atkuriamasis tyrimas buvo patikrintas ištiriant 8 teigiamus serumus su 2 rinkiniais, skirtingais partijos numeriais (cisticercozės antigenas iš 2 skirtingų partijos numerių). Tie patys WB modeliai buvo atidžiai stebimi su 2 lot numeriais.
- 8 teigiamų serumų su 4 skirtingais atvejais testavimas patikrino vidinio tyrimo atkuriamumą. Tie patys WB modeliai buvo atidžiai stebimi 4 atvejais.

Trukdžiai

- Net jeigu jokios kryžminės reakcijos su lipidų, hemolizuotais ar geltos serumais nebuvo pastebėtos, bet kokie pastebėti šių mėginių rezultatai turi būti interpretuojami atsargiai.

Literatūra

1. Craig P.S., Rogan M.T., Allan J.C.. Detection, screening and community epidemiology of taeniid cestode zoonoses: cystic echinococcosis, alveolar echinococcosis and neurocysticercosis. Advances in Parasitology, 38 (1997) 170-250.
2. Diaz J.F., Verastegui M., Gilman R.H., Tsang V.C.W., Pilcher J.B., Gallo C., Garcia H.H., Torres P., Montenegro T., Miranda E., and the CWG.. Immunodiagnosis of human cysticercosis (Taenia solium): A field comparison of an Antibody-Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), and an Enzyme-Linked-Immunotransfer-Blot (EITB) assay in Peru. Am. J. Trop. Med. Hyg., 46-5 (1992) 610-615.

„Genomas“
*
Beidė Kauslytė
VILNIAUS
Direktorius pavaduotoja

3. Esterre Ph, Andriantsimahavandy A., Boisier P.. Relations entre pathologie et immunité dans la cysticercose. Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar, 61 (1994) 14-20.
4. Feldman M., Plancarte A., Sandoval M., Wilson M., Flisser A.. Comparison of two assays (EIA and EITB) and two samples (saliva and serum) for the diagnosis of neurocysticercosis. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 84 (1990) 559-562.
5. Gottstein B., Zini D., Schantz P.M., Species-specific immunodiagnosis of Taenia solium cysticercosis by ELISA and Immunoblotting. Trop. Med. Parasit. 38 (1987) 299- 303
6. Houin R., Flisser A., Liance M.. Cestodes larvaires. Cestodoses larvaires. Editions Techniques. – Encycl. Méd. Chir. (Paris-France), Maladies infectieuses, 8-511-A-10 (1994) 22p
7. Michault A., Rivière B., Fressy P. Laporte J.P., Bertil G. Mignard C.. Apport de l'Enzyme-Linked-Immunoélectrotransfert-Blot Assay au diagnostic de la neurocysticercose humaine. Path. Biol. 38-2 (1990) 119-125.
8. Schantz P.M., Kramer M.H.J.. Larval cestode infections: cysticercosis and echinococcosis. Current Opinion in Infectious Diseases, 8 (1995) 342-350
9. Simac C., Michel Ph., Andriantsimahavandy A., Esterre Ph., Michault A. Use of enzyme- linked immunosorbent assay and enzyme-linked immunoelectrotransfer blot for the diagnosis and monitoring of neurocysticercosis. Parasitol. Res. 81 (1995) 132-136
10. Simac C., Michel Ph., Andriantsimahavandy A., Esterre Ph., Michault A.. Intérêt du diagnostic immunologique par ELISA et EITB pour la conduite diagnostique et thérapeutique d'une neurocysticercose. Arch. Inst. Pasteur Madagascar, 61 (1994) 21-27
11. Tsang V.C.W., Wilson M.. Taenia solium cysticercosis: an under-recognized but serious public health problem. Parasitology Today, 11 (1995) 124-126

VERTINIMO PROCEDŪROS SANTRAUKA

Ši santrauka yra skirta tik greitam informavimui – prieš pradedant dirbti būtina perskaityti visą instrukciją.

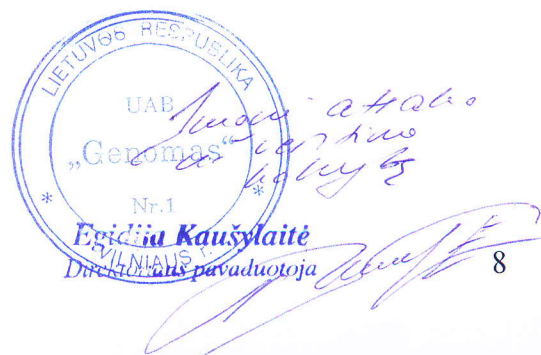
1. **Patvirtinkite** veikimo planą.
2. **Paskirstykite** 1,2 ml **R2** (paprasto buferio – rožinės spalva) į kiekvieną griovelį.
3. Vieną juostelę **R1 įmerkite** gerąja puse į kiekvieną griovelį. Atsargiai suplakite.
4. **Paskirstykite** 25 µl serumo mėginio (arba 50 µl CSF) ir 25 µl **R5** (teigiamos kontrolės). Atsargiai supurtykite padėklą po kiekvieno paskirstymo. **Serumas**: inkubuokite **90 min** ant svyruojančios platformos. CSF: inkubuokite visą naktį ant svyruojančios platformos. Uždenkite padėklą plėvele, kad neišgaruotų skysčiai.
5. **Nuplaukite** 3 kartus 1/10 atskiestu R3.
6. **Paskirstykite** 1,2 ml **R4** (konjugato – melsvos spalvos), atsargiai suplakite. **Inkubuokite 60 min** ant svyruojančios platformos.
7. **Nuplaukite** 3 kartus 1/10 atskiestu R3.
8. **Paskirstykite** 1,2 ml **R6** (substrato), atsargiai suplakite. **Inkubuokite ant svyruojančios platformos 10-60 min.**
9. **Sustabdykite** reakciją 2 kartus nuplaudami distiliuotu vandeniu.
10. **Perkelkite** juosteles ant filtrinio popieriaus. Leiskite džiūti 15 min.
11. **Palyginkite** kiekvieną mėginio juostelę su **R5** teigiama kontroline juostele.

CYSTICERCOSIS WB IgG

(teigiamo ir neigiamo rezultatų pavyzdžiai)

Žiūrėti originalo kalbos instrukcijoje 15 psl.

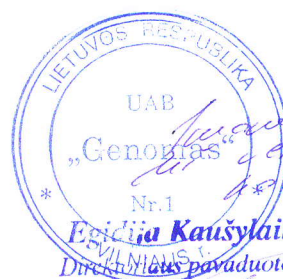
Interpretavimas



Rezultatų pagrįstumui visuomet palyginkite proteinų grupes ant mėginio juostelės su proteinų grupėmis ant teigiamos kontrolės juostelės (R5).

- **Serume:** minimum 2 gerai matomų grupių ant juostelės pasirodymas tarp 5 aukščiau paminėtų grupių reiškia cisticerkozę.
 - **CSF:** minimum 2 gerai matomų grupių ant juostelės pasirodymas tarp 5 aukščiau paminėtų grupių reiškia neurocisticerkozę.
- Pavyzdžiai viršuje: „+“= neurocysticerkozė – 8, 14, 11 = cistinė echinokokozė – 7 = alveolinė echinokokozė.

Pastaba: juostelė n°7 reprezentuoja dryžuotą – Mikado – aspektą, aprašytą anksčiau.



Rodyklė

Naudojimas	1
Cisticerkozė Western Blot IgG yra in vitro kokybinis imunoblotinis tyrimas, skirtas serologiniam	1
cisticerkozės IgG tyrimui žmogaus serume.	1
Tyrimo principas:	1
Rinkinio komponentai	1
Reikalingos medžiagos	2
Laikymo sąlygos ir tinkamumas	2
Ispėjimas	2
1/ Saugumas	2
2/Procedūra	3
Mėginių paėmimas	3
Reagentų paruošimas	3
Tyrimo procedūra	3
Rezultatų aiškinimas	4
Interpretavimas	5
NAUDOJIMO APRIBOJIMAI:	5
PROBLEMOS	5
KOKYBĖS KONTROLĖ	6
MĖGINIO CHARAKTERISTIKOS	6
APIBENDRINIMAS:	7
Literatūra	7
VERTINIMO PROCEDŪROS SANTRAUKA	8

